Aus dem Pharmakologischen Institut
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster - Westf.
Direktor: Professor Dr. med. et phil. H. Freund

Die Wirkung von Monobromacetat auf den Zuckerstoffwechsel von Bakterium coli.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster / Westf.

vorgelegt von
Wilhelm Giewekemeyer
aus Essen / Bredeney

1935

Gedruckt in der Buchdruckerei Franz Grube, Werne a. d. Lippe

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster / Westf.

Dekan:
Prof. Dr. Klinge

1935

Berichterstatter:
Prof. Dr. Freund

Die Wirkung von Monobromacetat auf den Zuckerstoffwechsel von Bakterium coli.

Nach der Aufdeckung der Hemmungswirkung, die die halogenierten Essigsäuren auf die Milchsäurebildung ausüben, durch Lundsgaard[1]) hat sich ein umfangreiches Schrifttum[2]) mit dieser Stoffwechselbeeinflussung beschäftigt. Im Vordergrunde standen dabei die Untersuchungen über den Muskelstoffwechsel und den Ablauf der Muskelfunktion unter Ausschluß der Milchsäurebildung. Die Frage nach der pharmakologischen Verwendbarkeit der halogenierten Essigsäure ist bisher wenig behandelt worden. Die pharmakologische Wirkung des Natriumbromacetat wurde von Neuss[3]) untersucht; dabei zeigte sich zwar, daß auch unabhängig von der Beeinflussung des Stoffwechsels der Warmblüterorganismus durch Monobromacet stark beeinflußt wird. Wenn durch Monobrominjektion der Tod meistens durch Atemstillstand und nach Blutdrucksenkung eintritt, war das Milchsäurebildungsvermögen der Muskulatur noch keineswegs völlig gehemmt, wohl aber in der Leber und Niere. Die Angaben von Neuss wurden im Wesentlichen von Hikiji[4]) bestätigt. Hikiji fand bei täglicher chronischer Darreichung einer Dosis, die etwa der halben tödlichen bei Kaninchen entspricht, eine eigenartig schwere Schädigung der Tiere, deren Hauptsymptom Auftreten von Oedemen, Glykogenschwund der Muskulatur, Kreatininvermehrung im Harn und ein von ihm als Kachexie gekennzeichneter Zustand sind.

Da jedoch die Toxizität beim Kaninchen etwa 50 mg pro kg betrifft und an isolierten Organen bereits sehr geringe Konzentrationen die Stoffwechselwirkung zeigen, so besteht doch wohl die Möglichkeit, unter bestimmten Voraussetzungen

---

[1]) Lundsgaard: Biochem. Z. 217, 162, 1930.
[2]) Literatur bei Haarmann: Biochem. Z. 256, 326, 1932.
[3]) Neuß: Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 160, 551, 1931.
[4]) Hikiji; Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 168, 1, 1932.

an eine therapeutische Verwendung der Monobromacetatwirkung zu denken. Ein chemischer Stoff, welcher die Oxydationen nicht nennenswert beeinflußt, aber ein wichtiges Glied der anaeroben energieliefernden Reaktionen verhindert, muß geeignet sein, anaerob lebende Krankheitserreger stark zu schädigen. Solche sind beispielsweise die Darmparasiten, die wie Rosenfeld[5]) an Askariden gezeigt hat, schon durch niedrige Monobromacetatkonzentrationen für lange Zeit geschädigt oder sogar abgetötet werden.

Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung des Stoffwechsels von Bakterien. Hierüber liegen bereits einige Veröffentlichungen vor. K. Meyer[6]) fand vergleichsweise die bei Gegenwart von Sauerstoff abtötende Wirkung der Monojodessigsäure auf Enterokokken etwa 10 mal schwächer als bei Phenol und Formaldehyd; die Milchsäurebildung war aber bereits in einer Konzentration von 1 : 5 000 vollkommen unterdrückt. Dazu ist zu bemerken, daß er keine direkten Milchsäurebestimmungen ausgeführt hat, sondern nur die Gesamtsäurebildung (PH — Werte) auf Milchsäure bezieht. Weitere Untersuchungen über die Beeinflussung des Bakterienstoffwechsels liegen vor von Akiji Fujita und Taheski Kodama[7]). Sie finden dabei einen Parallelismus in der Hemmungswirkung auf Atmung und Gärung. Die Untersuchungen sind bei Gegenwart von Sauerstoff ausgeführt.

Da aber im Darm mit dem Fehlen von Sauerstoff gerechnet werden muß, so ergibt sich daraus die Frage nach der Einwirkung des Monobromacetats auf den Bakterienstoffwechsel unter anaeroben Bedingungen. Dabei muß ein die Milchsäurebildung unterdrückender Stoff, der infolgedessen die Kohlehydratverwertung verhindert, von stärkstem Einfluß auf die energieliefernden Lebensvorgänge sein, da das Fehlen des Sauerstoffs die Oxydationen ausschließt und die dabei noch möglichen Dehydrierungsvorgänge kaum energetisch in Betracht kommen dürften. Daraus ergibt sich die Fragestellung der vorliegenden Untersuchungen.

Zu den folgenden Untersuchungen wurden verschiedene Stämme von Bakterium coli verwandt. Die Bakterien wurden teils selbst aus Kot gezüchtet und teils in freundlicher Weise vom Hygienischen Institut, Münster, zur Verfügung gestellt. Die Monobromacetatwirkung wurde sowohl bei Gegenwart von Sauerstoff als auch unter anaeroben Bedingungen geprüft.

---

[5]) K. Rosenfeld: Inaugural-Dissertation, Münster 1934.
[6]) K. Meyer: Biochem. Zeitschr. 256, 100, 1932.
[7]) Akiji Fujita u. Taheski Kodama: Biochem. Z. 271, 185, 1934.

Der Gärungsstoffwechsel der Coligruppe ist höchst verwickelt; sowohl aerob wie anaerob wird CO_2 gebildet, die aber in unseren Versuchen nicht bestimmt wurde. Nach den vorliegenden Untersuchungen [8]) fehlt unter den Abbauprodukten des Zuckers die Buttersäure, jedoch ist Alkohol nachgewiesen. Die Alkoholbildung wurde im Folgenden gleichfalls nicht untersucht. Unter den nachgewiesenen Endprodukten des Kohlehydratabbaus nimmt die Milchsäure die erste Stelle ein. An anderen Säuren entstehen Bernsteinsäure, Ameisensäure und Essigsäure. Um einen Maßstab für die Gesamtsäurebildung zu gewinnen, wurde die Titrationsazidität mit n/10 Natronlauge gegen Phenolphtalein untersucht. Im Uebrigen wurde die Kohlehydratabnahme und ferner die Milchsäurebildung quantitativ bestimmt.

Wie aus dem Schrifttum [9]) hervorgeht und wie auch in den folgenden Versuchen bestätigt wurde, verhält sich der Stoffwechsel einzelner Colistämme auch in quantitativer Hinsicht so verschieden, daß über den Anteil der Milchsäurebildung an dem Gesamtkohlehydratabbau keine allgemeingültigen zahlenmäßigen Angaben möglich sind. Man kann nur ungefähr soviel schließen, daß unter anaeroben Bedingungen etwa die Hälfte der abgebauten Kohlehydrate als Milchsäure wiedergefunden wird. Bei Gegenwart von Sauerstoff findet sich wesentlich weniger. Es ist wohl anzunehmen, daß bei Gegenwart von Sauerstoff entweder schon die Vorstufen der Milchsäure oder diese selbst weiter oxydiert werden.

Die Einzelheiten des Untersuchungsganges werden im Folgenden geschildert. Als Versuchsbouillon diente Standard-Nährbouillon der Firma Merck. Die Bakterien wurden auf Traubenzuckeragarplatten und Schrägröhrchen gezüchtet. Die Reinheit der Kulturen wurde vor jedem Versuch durch Färbung geprüft. Durch wiederholte Neuzüchtung erhielten wir Stämme, die ganz verschieden arbeiteten, z. B. teils Eiweiß spalteten, teils aber unangegriffen ließen, wenn keine Kohlehydrate zur Versuchsbouillon gegeben waren.

Versuchsanordnung.

Fläschchen von etwa 100 ccm Inhalt wurden mit Wattеverschluß im Heißluftschrank sterilisiert. Mit sterilen Pipetten wurde in jedes Fläschchen 35 ccm kochende, vorher sterilisierte

[8]) Virtanen u. Simola: Z. f. physiol. Chem. 163, 284, 1927, dort auch weitere Literaturangaben.
[9]) ebenda.

Bouillon gefüllt und dazu 5 ccm Monobromacetatlösung in fallenden Konzentrationen gegeben. Der Bouillon wurde je nach dem Versuchszweck 1 % Traubenzucker, Fruchtzucker oder Stärke zugesetzt. Nach Erkalten der Versuchsfläschchen auf ca. 30 ° C wurden die Versuchsansätze mit 10 ccm Kolibouillon, die 24 Stunden im Brutschrank bei 37 ° C entwickelt war, beimpft. So erhielten wir in allen Versuchen eine zehnfache Verdünnung der Monobromacetatlösung. Der Verdünnungsgrad ist aus den Tabellen zu ersehen. Das Ganze wurde dann 24 Stunden bzw. 48 Stunden im Brutschrank bei 37 ° C gehalten. In jeder Reihe wurde ein Versuch sofort unterbrochen (direkter Versuch), zwei Versuche ohne Zusatz von Monobromacetatlösung gehalten (Kontrollversuche). Zu den Kontrollversuchen wurde zur Verdünnung 5 ccm destilliertes Wasser gegeben.

Alle Versuche wurden durch Zusatz von 10 ccm gesättigter Zinksulfatlösung unterbrochen, nachdem vorher jeweils 5 ccm zur Bestimmung des Säuregrades entnommen war. Nach der Enteiweißung wurde das Zink durch Neutralisierung mit Natronlauge gegen Phenolphthalein ausgefällt. Im Filtrat wurde der Milchsäuregehalt nach der Methode von Friedemann, Cotonio und Shaffer[10]), der Zuckergehalt nach der bekannten Methode von Bertrand[11]) bestimmt. In einem Versuche wurde der Invertzucker bestimmt. In den Tabellen sind die gefundenen Werte in mg % angegeben. Die Werte der Gesamtsäurebildung sind ebenfalls in % ausgedrückt. Die Versuche wurden z. T. bei Sauerstoffgegenwart, z. T. nach vollkommener Evakuierung im Exsikkator, also unter anaeroben Bedingungen, angestellt. Die Versuchsergebnisse sind in den folgenden Tabellen zusammengestellt.

Aus der Tabelle 1 ist ersichtlich, daß bereits die schwächste Bromacetatkonzentration von 1 : 2 Millionen in den Bakterienstoffwechsel ein greift; dabei ist die Gesamtsäurebildung und die Glukoseabnahme noch unbeeinflußt; die Milchsäurebildung aber bereits um 25 % gehemmt. Das kommt darin zum Ausdruck, daß der Quotient Milchsäure zu Gesamtsäure von 0,71 auf 0,54 heruntergedrückt wird, die Milchsäure also statt zu 71 % in der Kontrolle nur noch zu 54 % an der Gesamtsäurebildung beteiligt ist. Ebenso zeigt der Quotient aus Milchsäurenachbildung und Glukoseabnahme, daß statt 37 % im Kontrollversuch nur 26 % des abgebauten Zuckers als Milchsäure wiedergefunden wird. Bei steigender Bromacetatkonzentration nimmt die Hem-

[10]) Friedemann, Cotonio, Shaffer: Biochem. Z. 255, 103, 1932.
[11]) Bertrand: Bujard-Baier, Hilfsbuch f. Nahrungsmittelchemiker.

Tabelle 1:

Coli-aerob, Versuchsdauer: 48 Stunden.

Versuchsanordnung	Säuregrad: ccm n/10 NaOH	Milchsäure: mg %	Glukose mg %	Gesamtsäurenachbildung ccm n/10 NaOH	Milchsäurenachbildung mg %	Glukoseabnahme mg %	Säurebildung (% vom Kontrollversuch)	Milchsäurebildung (% vom Kontrollversuch)	Glukoseabnahme (% vom Kontrollversuch)	Q Milchsäurenachbildg / Gesamtsäure nachbildg	Q Milchsäurenachbildg / Glukoseabnahme
direkt	15,0	63	790								
Kontrolle	38,0	226	354	23,0	163	436	100	100	100	0,71	0,37
Bromacetat											
1/2048 000	38,0	186	328	23,0	123	462	100	75	108	0,54	0,26
1/1024 000	42,0	174	368	27,0	111	422	118	71	97	0,41	0,26
1/ 512 000	36,0	110	384	21,0	47	406	91	29	93	0,22	0,12
1/ 256 000	31,0	79	388	16,0	16	402	70	10	92	0,10	0,04
1/ 128 000	20,0	74	460	5,0	11	330	22	7	76	—	0,03
1/ 64 000	17,0	71	481	2,0	9	309	9	5	71	—	0,03
1/ 32 000	15,0	66	538	0,0	3	252	0	2	58	—	0,01
1/ 16 000	15,0	56	590	0,0	— 7	200	0	0	46	—	—
1/ 8 000	15,0	57	622	0,0	— 6	168	0	0	38	—	—
1/ 4 000	15,0	49	665	0,0	—14	125	0	0	29	—	—
1/ 2 000	15,0	49	670	0,0	—14	120	0	0	28	—	—
1/ 1 000	15,0	56	730	0,0	— 7	60	0	0	14	—	—
1/ 500	15,0	51	786	0,0	—12	4	0	0	1	—	—

mung der Milchsäurebildung weiter zu und wird bei einer Konzentration von 1 : 64 000 vollständig. Dabei zeigt sich aber schon bei den stärkeren Verdünnungen eine allmählich zunehmende Beeinflussung der Gesamtsäurebildung, die etwas später als die Milchsäurebildung, also bei 1 : 32 000 vollkommen gehemmt ist.

Die Glukoseverwertung ist bei Sauerstoffgegenwart wesentlich widerstandsfähiger. Bei der Konzentration 1 : 32 000, bei der Gesamtsäurebildung und Milchsäurebildung völlig unterdrückt sind, beträgt der Glukoseabbau noch 58 % des Kontrollwertes. Der Glukoseabbau nimmt mit steigender Konzentration noch weiter ab und ist erst bei der höchsten Konzentration von 1 : 500 völlig unterdrückt. Bei Sauerstoffgegenwart führt also der Kohlehydratabbau nicht zu Säurebildung. In welcher Weise er geleitet wird (CO_2-Bildung?, Alkoholbildung), läßt sich aus unseren Versuchen nicht sagen. Mit dem Fehlen der Milchsäurenachbildung ist zugleich auch die Möglichkeit gegeben, den Milchsäureschwund zu untersuchen, der bei Sauerstoffgegenwart oxydativ, aber, wie Haarmann[12]) gezeigt hat, auch anaerob zustande kommen kann. Die Milchsäureabnahme zeigt sich deutlich bei den höheren Konzentrationen.

Wie aus Tabelle 2 hervorgeht, sind die anaerob von uns untersuchten Stoffwechselvorgänge wesentlich anders als bei Gegenwart von Sauerstoff. Die Gesamtsäure ist stärker vermehrt, die Milchsäure aber annähernd gleich. Aber der Glukoseabbau beträgt nur etwa $^2/_3$ desjenigen bei Sauerstoffgegenwart. Gegen die Bromacetatwirkung sind alle drei untersuchten Stoffwechselvorgänge unter anaeroben Bedingungen sehr viel empfindlicher als bei Gegenwart von Sauerstoff. Bei der niedrigst untersuchten Konzentration von 1 : 1 000 000 beträgt die Säurebildung nur noch 57 %, die Glukoseabnahme nur noch 43 % des Kontrollversuchs. Bei der gleichen Konzentration waren bei Gegenwart von Sauerstoff beide Vorgänge nicht gehemmt; die Milchsäurebildung beträgt dabei noch 24 % gegenüber 71 % bei Sauerstoffgegenwart. Praktisch vollkomene Hemmung aller drei Vorgänge ist bei der Verdünnung 1 : 64 000 erreicht. Der hervorstechenste Unterschied zwischen aeroben und anaeroben Versuchsbedingungen findet sich bei dem Glukoseverbrauch. Während bei Sauerstoffgegenwart trotz völliger Verhinderung der Säurebildung noch auf anderen Wegen durch Glukoseabbau Energie gewonnen werden konnte, und zwar bis zu den höchsten Konzentrationen von Monobromacetat hinauf, reichen bereits

[12]) Haarmann: Biochem. Z. 256, 326, 1932.

Tabelle 2:

Coli-anaerob, Versuchsdauer: 48 Stunden.

Versuchsanordnung	Säuregrad ccm n/10 Na OH	Milchsäure mg %	Glukose mg %	Gesamtsäure nachbildung ccm n/10 NaOH	Milchsäurenachbildung mg %	Glukoseabnahme mg %	Säurebildung (% vom Kontrollversuch)	Milchsäurebildung (% vom Kontrollversuch)	Glukoseabnahme (% vom Kontrollversuch)	Q Milchsäurenachbildg / Gesamtsäurenachbildg	Q Milchsäurenachbildg / Glukoseabnahme
direkt	15,0	63	790								
Kontrolle	45,0	206	525	30,0	143	265	100	100	100	0,48	0,54
Bromacetat											
1/1024 000	32,0	97	675	17,0	34	115	57	24	43	0,20	0,29
1/ 512 000	30,0	86	675	15,0	23	115	50	16	43	0,15	0,20
1/ 256 000	27,6	81	710	12,6	18	80	42	13	30	0,14	0,22
1/ 128 000	28,5	84	760	13,5	21	30	45	15	11	0,16	—
1/ 64 000	17,0	78	770	2,0	15	20	7	10	8	—	—
1/ 32 000	16,0	73	770	1,0	10	20	3	7	8	—	—
1/ 16 000	15,0	71	780	0,0	8	10	0	6	4	—	—
1/ 8 000	15,0	76	765	0,0	13	25	0	9	9	—	—
1/ 4 000	17,0	66	760	2,0	3	30	7	2	11	—	—
1/ 2 000	16,0	62	770	1,0	−1	20	3	0	8	—	—
1/ 1 000	16,0	66	770	1,0	3	20	3	2	8	—	—
1/ 500	15,5	72	770	0,5	9	20	1,5	6	8	—	—

die Konzentrationen von 1 : 64 000 aus, um unter anaeroben Bedingungen diese Energiequelle annähernd so stark auszuschalten, wie es bei Sauerstoffgegenwart erst die Konzentration von 1 : 1 000 bewirkte.

Tabelle 3: Coli-aerob, Versuchsdauer: 24 Std.

Versuchsanordnung	Säuregrad n/10 NaOH	Säurenachbildung		Glukose mg %	Glukoseabnahme	
		ccm NaOH	% von der Kontrolle		mg %	mg % von der Kontrolle
direkt	13,6	—	—	1118	—	—
Kontrolle	39,2	25,6	100	874	244	100
Monobromacet.						
8192 000	28,6	15,0	60	878	240	98
4096 000	28,0	14,4	57	855	263	108
2048 000	31,6	18,0	72	860	258	106
1024 000	30,0	16,4	65	860	258	106
512 000	28,0	14,4	57	855	263	108
256 000	20,2	6,6	26	874	244	100
128 000	20,2	6,6	26	916	202	83
64 000	18,0	4,4	17	938	180	74
32 000	16,0	2,4	10	1026	92	38
16 000	14,6	1,0	4	1072	46	19
8 000	14,6	1,0	4	1090	28	12
4 000	14,6	1,0	4	1080	38	15
2 000	14,6	1,0	4	1074	44	18
1 000	13,6	0,0	0	1110	8	3
500	13,6	0,0	0	1120	—2	0

In den Tabellen 3, 4 und 5 sind drei weitere Versuchsreihen unter aeroben Bedingungen angestellt, bei denen die zur Anwendung kommenden Konzentrationsreihen des Monobromacetats verlängert waren. Sie sind mit verschiedenen Colistämmen angestellt und zeigen daher das verschiedenartige Verhalten der Stoffwechselvorgänge, von denen bereits in der Einleitung gesprochen wurde. Die stärksten Verdünnungen von 10^{-10} bis zu 10^{-7}, die in den ersten beiden Versuchen noch nicht zur Anwendung kamen, wurden angesetzt, um ein von Haarmann und seinem Mitarbeiter [13]) gefundenes Verhalten der

[13]) Haarmann u. Stratmann, Münster: noch unveröffentlichte Arbeiten.

Tabelle 4: Coli-aerob, Versuchsdauer: 24 Stunden.

Versuchsanordnung	Säuregrad: ccm n/10 NaOH	Milchsäure mg %	Glukose mg %	Gesamtsäurenachbildung ccm n/10 NaOH	Milchsäurenachbildung mg %	Glukoseabnahme mg %	Säurebildung (% vom Kontrollversuch)	Milchsäurebildung (% vom Kontrollversuch)	Glukoseabnahme (% vom Kontrollversuch)	Q Milchsäurenachbildg / Gesamtsäurenachbildg	Q Milchsäurenachbildg / Glukoseabnahme
direkter Vers.	16,0	70	724								
Kontrollvers.	46,0	210	345	30	140	379	100	100	100	0,47	0,37
Monobromacet.											
1.10^{-10}	42,0	238	360	26	168	364	86	120	96	0,65	0,46
$3{,}3.10^{-10}$	46,0	228	416	30	158	308	100	113	83	0,53	0,51
1.10^{-9}	44,0	232	528	28	162	196	92	116	52	0,60	0,83
$3{,}3.10^{-9}$	40,0	248	502	24	178	222	79	127	59	0,74	0,80
1.10^{-8}	40,0	234	506	24	164	218	79	117	58	0,68	0,75
$3{,}3.10^{-8}$	38,0	229	390	22	159	334	73	114	88	0,72	0,48
1.10^{-7}	38,0	234	374	22	164	350	73	117	92	0,75	0,47
$3{,}3.10^{-7}$	36,0	234	374	20	164	350	70	117	92	0,82	0,47
1.10^{-6}	30,0	125	438	14	55	286	46	39	76	0,39	0,19
$3{,}3.10^{-6}$	26,0	103	478	10	33	246	33	23	65	0,33	0,13
1.10^{-5}	24,0	83	562	8	13	162	25	9	43	0,16	0,08
$3{,}3.10^{-5}$	22,0	75	608	6	5	116	19	4	31	0,09	0,04
1.10^{-4}	20,0	71	702	4	1	22	13	1	6	0,02	0,05
$3{,}3.10^{-4}$	18,0	69	710	2	—1	14	6	0	4	—	—
1.10^{-3}	16,0	69	718	—	—1	4	0	0	1	—	—

Tabelle 5: Coli-aerob, Versuchsdauer: 24 Stunden.

Versuchsanordnung	Säuregrad: ccm n/10 NaOH	Milchsäure: mg %	Glukose mg %	Gesamtsäurenachbildung ccm n/10 NaOH	Milchsäurenachbildung mg %	Glukoseabnahme mg %	Säurebildung % vom Kontrollversuch	Milchsäurebildung % vom Kontrollversuch	Glukoseabnahme % vom Kontrollversuch	Q Milchsäurenachbildg Gesamtsäure nachbildg	Q Milchsäurenachbildg Glukoseabnahme
direkter Vers.	10	31	548								
Kontrollvers.	42	97	416	32	66	132	100	100	100	0,21	0,50
Monobromacet.											
1.10^{-10}	40	102	320	30	71	228	93	106	173	0,24	0,31
$3,3.10^{-10}$	38	102	312	28	71	236	87	106	179	0,25	0,30
1.10^{-9}	36	106	328	26	75	220	81	113	167	0,30	0,34
$3,3.10^{-9}$	34	102	342	24	71	206	74	106	157	0,30	0,34
1.10^{-8}	32	125	374	22	94	174	68	141	132	0,43	0,54
$3,3.10^{-8}$	31	102	376	21	71	172	65	106	131	0,34	0,41
1.10^{-7}	31	99	406	21	68	142	65	102	108	0,32	0,47
$3,3.10^{-7}$	30	89	438	20	58	110	62	87	84	0,29	0,52
1.10^{-6}	30	73	456	20	42	92	62	63	70	0,21	0,50
$3,3.10^{-6}$	24	30	514	14	−1	34	44	—	26	—	—
1.10^{-5}	23	25	522	13	−6	26	40	—	20	—	—
$3,3.10^{-5}$	21	32	514	11	1	34	34	—	26	—	—
1.10^{-4}	18	27	534	8	−4	14	25	—	11	—	—
$3,3.10^{-4}$	16	25	538	6	−6	10	19	—	8	—	—
1.10^{-3}	10	29	546	0	−2	2	0	—	1,5	—	—

Tabelle 6: Coli-anaerob, Versuchsdauer: 24 Stunden.

Versuchsanordnung	Säuregrad: ccm n/10 NaOH	Milchsäure mg %	Glukose mg %	Gesamtsäurenachbildung ccm n/10 NaOH	Milchsäurenachbildung mg %	Glukoseabnahme mg %	Säurebildung % vom Kontrollversuch	Milchsäurebildung % vom Kontrollversuch	Glukoseabnahme % vom Kontrollversuch	Q Milchsäurenachbildg / Gesamtsäurenachbildg	Q Milchsäurenachbildg / Glukoseabnahme
direkt	16	91	890								
Kontrolle	48	204	525	32	113	365	100	100	100	0,35	0,31
Monobromacet.											
3,3.10^{-10}	48	217	540	32	126	350	100	112	96	0,40	0,36
1.10^{-9}	48	216	565	32	125	325	100	111	89	0,39	0,38
3,3.10^{-9}	46	—	602	30	—	288	96	—	79	—	—
1.10^{-8}	44	218	615	28	127	275	92	113	74	0,45	0,46
3,3.10^{-8}	44	237	660	28	146	230	92	129	62	0,52	0,63
1.10^{-7}	42	249	680	26	158	210	86	140	57	0,60	0,75
3,3.10^{-7}	40	235	715	24	144	175	79	127	47	0,60	0,82
1.10^{-6}	32	189	745	16	98	145	53	87	40	0,61	0,68
3,3.10^{-6}	25	120	765	9	29	125	30	26	34	0,32	0,23
1.10^{-5}	22	113	815	6	22	75	20	19	20	0,36	0,29
3,3.10^{-5}	20	77	815	4	-14	75	13	—	20	—	—
1.10^{-4}	20	68	845	4	-23	45	13	—	12	—	—
3,3.10^{-4}	20	74	870	4	-17	20	13	—	5	—	—
1.10^{-3}	16	72	880	0	-19	10	0	—	3	—	—

Monobromessigsäure nachzuprüfen, daß nämlich mit zunehmender Verdünnung die Wirkungsrichtung umgekehrt wird, so daß die Hemmung in eine Förderung umschlägt. Dieses zeigt sich auch am Bakterienstoffwechsel in den Tabellen deutlich an der Milchsäurebildung, nicht aber an der Gesamtsäurebildung. Die Glukoseabnahme bei diesen starken Verdünnungen verhält sich in dem Versuch 3 und 4 verschieden und in der Tabelle 5 wird sie durch die stärksten Verdünnungen gesteigert. Sie erreicht erst bei der Konzentration von $1 \cdot 10^{-7}$ den Kontrollwert. Bei den höheren Konzentrationen entsprechen die Ergebnisse mit geringen Abweichungen dem Versuch der Tabelle 1.

Ein ebenso angeordneter anaerober Versuch ist in Tabelle 6 dargestellt. In den höheren Konzentrationen zeigt er ähnliche Verhältnisse wie der Versuch der Tabelle 2. In der Richtung nach den stärkeren Verdünnungen hin, von $3{,}3 \cdot 10^{-7}$ an, findet sich wieder die Umkehr der Wirkungsrichtung, also eine Zunahme der Milchsäurebildung.

In weiteren Versuchsreihen wurde die Fähigkeit der Colibakterien geprüft, unter Bromacetatwirkung andere Kohlehydrate abzubauen. Zusatz von Stärke zur Bouillon ergab eindeutig, daß bereits in der Kontrolle ebenso wie in allen angesetzten Bromacetatversuchen die Colibazillen aus Stärke weder reduzierende Zucker noch Milchsäure oder andere Säuren zu bilden vermögen. Es zeigte sich dabei eine mehr oder weniger ausgeprägte Abnahme der präformierten Milchsäure, die etwa 10—20 % betrug.

Bei Zugabe von Saccharose an Stelle der Glukose verhielt sich, wie Tabelle 7 zeigt, die Monobramcetatwirkung ebenso wie bei Glukosezusatz. Unter aeroben Bedingungen ist die Milchsäurebildung am empfindlichsten nämlich bereits bei der Verdünnung von $1 \cdot 10^{-5}$ vollkommen unterdrückt. Bei dieser Verdünnung werden aber noch 35 % andere Säuren nachgebildet und der Saccharoseabbau beträgt noch 17 % des Kontrollversuches. Eine praktisch vollkomene Hemmung der Saccharoseabnahme und der Säurenachbildung ist bei der Konzentration $3{,}3 \cdot 10^{-4}$ erreicht. Die bisher angeführten Versuche zeigen eindeutig, daß die Monobromacetatwirkung in verhältnismäßig starken Verdünnungen den anaeroben Teil der energieliefernden Vorgänge unterdrückt. Bei Gegenwart von Sauerstoff bleibt den Bakterien die Möglichkeit des oxydativen Abbaus erhalten. Unter anaeroben Bedingungen zeigt sich erstens die sehr viel größere Inanspruchnahme des verfügbaren Nährmaterials bei Vergleich der Kontrollversuche mit den Werten bei Sauerstoffgegenwart

Tabelle 7: Coli-aerob, Saccharosebouillon, Versuchsdauer: 24 Std.

Versuchsanordnung	Säuregrad n/10 Na OH	Milchsäure mg %	Glukose mg %	Invertzucker ccm n/10 Na OH	Gesamtsäure nachbildung mg %	Milchsäurenachbildung mg %	Saccharoseabnahme mg %	Säurebildung % vom Kontrollversuch	Milchsäurebildung mg % vom Kontrollversuch	Sacch. abnahme mg % vom Kontrollversuch	Q Milchsäurenachbildg / Gesamtsäurenachbildg	Q Milchsbildung / Sacchar. abnahme
direkt	14	69	0	950								
Kontrolle	46	198	0	525	32	129	425	100	100	100	0,40	0,30
Monobromacet.												
1.10^{-9}	46	177	0	525	32	108	425	100	84	100	0,34	0,25
$3{,}3.10^{-9}$	46	178	0	560	32	109	390	100	85	92	0,34	0,27
1.10^{-8}	48	176	0	635	34	107	315	106	83	74	0,32	0,34
$3{,}3.10^{-8}$	44	174	0	625	30	105	325	96	81	76	0,35	0,32
1.10^{-7}	42	173	0	735	28	104	215	90	81	51	0,37	0,48
$3{,}3.10^{-7}$	42	138	0	755	28	69	195	90	54	45	0,25	0,35
1.10^{-6}	36	131	0	775	22	62	175	70	48	40	0,28	0,35
$3{,}3.10^{-6}$	34	100	0	865	20	31	85	64	24	20	0,15	0,36
1.10^{-5}	25	67	0	880	11	— 2	70	35	0	17	–	–
$3{,}3.10^{-5}$	24	63	0	880	10	— 6	70	32	0	17	–	–
1.10^{-4}	24	55	0	890	10	—14	60	32	0	14	–	–
$3{,}3.10^{-4}$	24	57	0	950	10	—12	0	32	0	0	–	–
1.10^{-3}	22	56	0	950	8	—13	0	26	0	0	–	–

und ferner die sehr viel stärkere Empfindlichkeit der Bromacetatlösung gegenüber.

Eine so stark in den Zellstoffwechsel eingreifende Substanz mußte deshalb auf ihre bakterientötende Wirkung untersucht werden. Zu diesem Zwecke wurde in den folgenden Versuchen die Bromacetatwirkung verglichen mit der Wirkung von Karbolsäure und Sublimat. Es konnte dabei zugleich auch die Frage entschieden werden, ob etwa die Abnahme des Zuckerverbrauchs und der Milchsäurebildung nicht nur auf einer Hemmung der fermentativen Vorgänge, sondern auf einer wachstumshemmenden oder abtötenden Wirkung beruht. In den folgenden drei Tabellen wurde dieser Vergleich durchgeführt, an dem gleichen Bakterienstamm, der unter völlig gleichen Ernährungsbedingungen gehalten war. Es wurden die Stoffwechselvorgänge in der gleichen Weise untersucht wie in den früheren Versuchen und vor dem Unterbrechen jedes einzelnen Versuches eine Normalöse entnommen und auf Traubenzuckeragarplatten ausgestrichen. Auf diese Weise erhält man nur ganz grobe Anhaltspunkte für die Vermehrungsfähigkeit der Bakterien. Die Kolonien wurden nicht ausgezählt, sondern die Wachstumsstärke aus der Menge der zusammenhängenden Kolonien geschätzt. In den Tabellen ist das Wachstum durch +-Zeichen angegeben.

Der Vergleich von Monobromacetatwirkung und Sublimatwirkung ergibt an den Stoffwechselvorgängen gemessen annähernd das gleiche Wirkungsbild. In beiden Versuchen ist die Milchsäurebildung bei $3{,}3 \cdot 10^{-6}$ vollständig unterdrückt; die Glukoseabnahme in beiden Fällen auf etwa 10 % heruntergegangen. Der Unterschied zeigt sich aber sehr deutlich im Bakterienwachstum. Das Sublimat hat bereits in der Verdünnung 10^{-5} die Bakterien vollständig getötet, während das Monobromacetat erst in der stärksten Konzentration von 10^{-3} die Bakterien ganz abtötet. Eine Wachstumshemmung etwa in gleicher Größe wird durch Sublimat in der Verdünnung 10^{-6} bewirkt. Daraus geht hervor, daß die Hemmung der Milchsäurebildung und des Kohlehydratabbaus durch Monobromacetat nicht durch eine Wachstumshemmung der Bakterien zustandekommt und umgekehrt bei Sublimat gerade dieser Faktor ausschlaggebend für den Ausfall der Stoffwechseluntersuchungen ist. In einem Kontrollversuch wurde diese Feststellung bestätigt.

Auch bei der Karbolsäure, die viel schwächer antiseptisch wirkt als Sublimat und wesentlich schwächer als Monobromacetat zeigt sich eine Abnahme der Milchsäurebildung erst in

Tabelle 8a: Coli-aerob, Versuchsdauer: 24 Stunden.

Versuchsanordnung	Milchsäure µg %	Glukose mg %	Milchsäurebildung mg %	Glukoseabnahme mg %	Milchsäurebildung % vom Kontrollversuch	Glukoseabnahme % vom Kontrollversuch	Milchsäurebildung / Glukoseabnahme	Bakterienwachstum
direkt	68	912						
Kontrolle	153	472	85	440	100	100	0,19	+++++
Monobromacetat								
1.10^{-10}	156	616	88	296	104	67	0,30	+++++
$3{,}3.10^{-10}$	157	624	89	288	105	66	0,31	+++++
1.10^{-9}	159	608	91	304	107	69	0,30	+++++
$3{,}3.10^{-9}$	157	608	89	304	105	69	0,29	+++++
1.10^{-8}	143	640	75	272	88	62	0,28	+++++
$3{,}3.10^{-8}$	142	648	74	264	87	60	0,28	+++++
1.10^{-7}	127	678	59	234	69	53	0,25	+++++
$3{,}3.10^{-7}$	125	684	57	228	67	52	0,25	+++++
1.10^{-6}	113	704	45	208	53	47	0,22	++++
$3{,}3.10^{-6}$	69	804	1	108	1	25	0,01	++++
1.10^{-5}	55	866	−13	46	0	10	—	++++
$3{,}3.10^{-5}$	55	866	−13	46	0	10	—	+++
1.10^{-4}	52	874	−16	38	0	9	—	+++
$3{,}3.10^{-4}$	51	884	−17	28	0	6	—	++
1.10^{-3}	48	914	−20	−2	0	0	—	0

Tabelle 8b: Coli-aerob, Versuchsdauer: 24 Stunden.

Versuchsanordnung	Milchsäure mg %	Glukose mg %	Milchsäurebildung mg %	Glukoseabnahme mg %	Milchsäurebildung (% vom Kontrollversuch)	Glukoseabnahme (% vom Kontrollversuch)	Milchsäurebildung / Glukoseabnahme	Bakterienwachstum
direkt	68	904						
Kontrolle	156	472	88	432	100	100	0,20	+++++
Sublimat								
1.10^{-10}	144	578	76	326	87	75	0,23	+++++
$3,3.10^{-10}$	140	578	72	326	82	75	0,22	+++++
1.10^{-9}	146	604	78	300	89	69	0,26	+++++
$3,3.10^{-9}$	152	632	84	272	95	63	0,31	+++++
1.10^{-8}	153	640	85	264	96	61	0,32	++++
$3,3.10^{-8}$	160	660	92	244	105	56	0,38	++++
1.10^{-7}	138	684	70	220	80	50	0,32	++++
$3,3.10^{-7}$	116	748	48	156	55	36	0,31	+++
1.10^{-6}	106	780	38	124	43	28	0,31	+++
$3,3.10^{-6}$	58	832	—10	72	0	17	—	++
1.10^{-5}	55	840	—13	64	0	15	—	—
$3,3.10^{-5}$	55	884	—13	20	0	4	—	–
1.10^{4}	55	892	—13	12	0	3	—	—
$3,3.10^{-4}$	55	902	—13	2	0	0	—	–
1.10^{-3}	55	902	– 13	2	0	0	—	–

Tabelle 8c: Coli-aerob, Versuchsdauer: 24 Stunden.

Versuchsanordnung	Milchsäure mg %	Glukose mg %	Milchsäurebildung mg %	Glukoseabnahme mg %	Milchsäurebildung % v. Kontrollvers.	Glukoseabnahme % v. Kontrollvers.	Milchsäurebildung / Glukoseabnahme	Bakterienwachstum
direkt	68	892						
Kontrolle	156	464	88	428	100	100	0,21	+++++
Karbolsäure								
1.10^{-10}	158	592	90	300	102	71	0,30	+++++
$3{,}3.10^{-10}$	157	560	89	332	101	78	0,27	+++++
1.10^{-9}	158	592	90	300	102	71	0,30	+++++
$3{,}3.10^{-9}$	159	592	91	300	103	71	0,30	+++++
1.10^{-8}	162	632	94	260	107	61	0,36	+++++
$3{,}3.10^{-8}$	167	640	99	252	112	59	0,39	+++++
1.10^{-7}	166	632	98	260	111	61	0,38	+++++
$3{,}3.10^{-7}$	169	660	101	232	115	54	0,43	+++++
1.10^{-6}	168	648	100	244	114	57	0,41	++++
$3{,}3.10^{-6}$	166	660	98	232	111	54	0,42	++++
1.10^{-5}	165	660	97	232	110	54	0,42	++++
$3{,}3.10^{-5}$	149	648	81	244	92	57	0,33	++++
1.10^{-4}	146	660	78	232	89	54	0,34	+++
$3{,}3.10^{-4}$	143	648	75	244	86	57	0,31	+++
1.10^{-3}	138	648	70	244	80	57	0,29	+++

Tabelle 9: Coli-aerob, Versuchsdauer: 24 Std.

Versuchsanordnung	Milchsäure mg %	Glukose mg %	Milchsäurenachbildg. mg %	Glukoseabnahme mg %	Milchsäurebildung % v. Kontrollvers.	Glukoseabnahme % v. Kontrollvers.	Wachstum der Bakterien
direkt	76	956					
Kontrolle	188	584	112	372	100	100	++++++
Karbolsäure							
1.10^{-3}	164	615	88	341	80	92	+++
1:750	161	624	85	332	77	86	+++
1:500	121	676	45	280	42	74	++
1:250	98	868	22	88	20	23	+
1:100	69	936	—7	20	0	5	0

denjenigen Konzentrationen, in denen bereits eine deutliche Wachstumshemmung zur Beobachtung kam. Sehr augenfällig ist bei zunehmender Verdünnung der Karbolsäure die Wirkungsumkehr in eine Förderung der Milchsäurebildung. Die Glukoseabnahme wird auffallenderweise in allen angewandten Verdünnungen durch Karbolsäure herabgesetzt. — Ein Befund der nach den vorliegenden Untersuchungen nicht gedeutet werden kann.

Die abtötende Wirkung von Monobromacetat unter Sauerstoffgegenwart liegt bei 1 : 1 000. Wie Tabelle 1 zeigt, ist bei dieser Konzentration die Verwertung der Glukose auf 14 % heruntergedrückt und erst bei 1 : 500 völlig aufgehoben. In dem Versuch der Tabelle 8 a entspricht gleichfalls der vollkommenen Tötung oder der starken Wachstumshemmung die praktische Ausschaltung des Glukoseverbrauchs. Unter anaeroben Bedingungen (Tabelle 2) ist nun gerade der Glukoseabbau der Colibakterien besonders empfindlich und bereits in einer Verdünnung von 1 : 64 000 — 1 : 128 000 etwa ebenso stark gehemmt wie durch die abtötende Konzentration bei Gegenwart von Sauerstoff. Daraus ergibt sich die Folgerung, daß unter anaeroben Bedingungen das Monobromacetat bereits in diesen Konzentrationen entweder zu einer schweren Schädigung der Bakterien bzw. zu ihrer Abtötung oder aber zu einer hochgradigen Störung der energieliefernden Stoffwechselvorgänge führen muß.

Unter aeroben Bedingungen steht das Natriummonobromacetat in seiner baktericiden Wirkung zwischen Sublimat und

Phenol. Sublimat tötet in der Verdünnung $1 \cdot 10^{-5}$ alle Erreger ab, Monobromacetat in der Verdünnung $1 \cdot 10^{-3}$, das Phenol dagegen erst in der Verdünnung 1 : 250 vollständig. Die letztere Angabe ist aus der Tabelle 9 ersichtlich. Auch hier zeigt sich im Stoffwechsel der Parallelismus zwischen abtötender Wirkung und Hemmungswirkung auf die Stoffwechselvorgänge bei Phenol, wie in dem Kontrollversuch der Tabelle 9 mit höheren Konzentrationen von Karbolsäure bei gleichzeitiger Kontrolle der Stoffwechselvorgänge gezeigt werden konnte.

Zusammenfassung.

Monobromacetatlösungen bewirken am Stoffwechsel von Colibakterien eine Hemmung der Milchsäurebildung, der Gesamtsäurebildung und des Zuckerabbaus. Am empfindlichsten dabei ist die Milchsäurebildung. Die Wirkung tritt sowohl unter aeroben wie unter anaeroben Bedingungen auf; während aber unter aeroben Bedingungen der oxydative Kohlehydratabbau erst durch sehr viel höhere Konzentrationen beeinflußt wird und eine Tötung der Bakterien erst dann eintritt, wenn Kohlehydrate nicht mehr abgebaut werden können, ist bei Sauerstoffabschluß auch der Zuckerverbrauch bereits in starken Verdünnungen hochgradig gehemmt.

Lebenslauf.

Am 25. Juli 1909 wurde ich als Sohn des Bäckermeisters Gerhard Giewekemeyer in Essen-Rellinghausen geboren. Ich besuchte zuerst die Volksschule, dann das Realgymnasium in Essen-Bredeney. Ostern 1929 erhielt ich das Zeugnis der Reife. Darauf widmete ich mich dem Studium der Medizin an der Universität in Marburg. Im Sommer 1931 bestand ich dort die ärztliche Vorprüfung. Während der klinischen Semester studierte ich in Münster, wo ich im Winter 1934/35 das medizinische Staatsexamen ablegte. Seit dem 1. Februar 1935 bin ich als Medizinalpraktikant am Marienhospital in Bottrop tätig.